

DOI: <https://doi.org/10.17816/CS569019>

# Ассоциации полиморфизма rs1132896 гена матричной металлопротеиназы 2-го типа с развитием острого нарушения мозгового кровообращения: проспективное исследование случай–контроль

Д.А. Никулин<sup>1,2</sup>, А.А. Чернова<sup>1,2</sup>, С.Ю. Никулина<sup>1</sup>, С.В. Прокопенко<sup>1,2</sup>, И.И. Черкашина<sup>1</sup><sup>1</sup> Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия;<sup>2</sup> Федеральный Сибирский научно-клинический центр, Красноярск, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** Выявление в российской популяции новых генетических предикторов, в частности, ассоциаций полиморфизма rs1132896 гена матричной металлопротеиназы 2-го типа (*MMP-2*) с развитием острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), является актуальной задачей.

**Цель.** Изучить ассоциации полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* с развитием ОНМК.

**Материалы и методы.** Объектом проспективного исследования случай–контроль выступили 318 пациентов с ОНМК (основная группа) и 323 человека контрольной группы. Возраст пациентов основной группы составил от 32 до 69 лет [57,0; 51,0–62,0]. У пациентов контрольной группы возраст был сопоставим с таковым основной группы: от 37 до 68 лет [55,0; 51,0–62,0]. Половой диморфизм был следующим: 191 мужчина (возраст [56,5; 51,0–62,0]) и 127 женщин (возраст [57,0; 51,0–62,0]). Половой состав лиц контрольной группы соответствовал таковому основной группы: 214 мужчин (возраст [55,0; 51,0–62,0]) и 109 женщин (возраст [55,0; 51,0–62,0]). Всем пациентам основной группы проводили клинический осмотр, компьютерную томографию головного мозга, электрокардиографию, эхокардиоскопию, ультразвуковое дуплексное сканирование экстракраниальных брахиоцефальных артерий, суточное мониторирование артериального давления и сердечного ритма, анализ свертывающей системы крови. Молекулярно-генетическое исследование выполняли в филиале Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Все пациенты подписали письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Продолжительность исследования составила 3 года, первичная конечная точка исследования — диагностика ОНМК у пациентов, верификация сопутствующей сердечно-сосудистой патологии и факторов риска развития ОНМК. Статистическую обработку результатов выполняли при помощи пакетов программ SPSS Statistics v. 22 (IBM, США), MedCalc 22.006 (Microsoft, США). При сравнении протяжённых переменных применяли *U*-критерий Манна–Уитни. Дискретные величины сравнивали с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона.

**Результаты.** При анализе статистической значимости зарегистрировано преобладание гомозиготного генотипа *CC* в группе больных мужчин с ОНМК:  $n=24$  (12,6%) против  $n=20$  (9,3%;  $p=0,0324$ ). Кроме того, в группе женщин отмечено статистически значимое преобладание гетерозиготного генотипа *CG* у женщин с ОНМК:  $n=67$  (52,8%) против  $n=42$  (38,5%;  $p=0,0420$ ).

**Заключение.** Гомозиготный генотип *CC* у мужчин и гетерозиготный генотип *CG* у женщин могут являться генетическими предикторами развития ОНМК. Изучение генетических факторов развития ОНМК необходимо для создания персонализированного подхода к ведению пациента на амбулаторном и стационарном этапе оказания медицинской помощи.

**Ключевые слова:** острое нарушение мозгового кровообращения; полиморфизм; ген матричной металлопротеиназы 2-го типа (*MMP-2*).

## Как цитировать:

Никулин Д.А., Чернова А.А., Никулина С.Ю., Прокопенко С.В., Черкашина И.И. Ассоциации полиморфизма rs1132896 гена матричной металлопротеиназы 2-го типа с развитием острого нарушения мозгового кровообращения: проспективное исследование случай–контроль // CardioСоматика. 2023. Т. 14, № 4. С. 215–222. DOI: <https://doi.org/10.17816/CS569019>

DOI: <https://doi.org/10.17816/CS569019>

# Associations of the rs1132896 polymorphism of the matrix metalloproteinase type 2 gene with the development of acute cerebrovascular accident: prospective case–control study

Dmitrii A. Nikulin<sup>1,2</sup>, Anna A. Chernova<sup>1,2</sup>, Svetlana Yu. Nikulina<sup>1</sup>, Semen V. Prokopenko<sup>1,2</sup>, Irina I. Cherkashina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia;

<sup>2</sup> Federal Siberian Scientific and Clinical Center, Krasnoyarsk, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** The study focused on the identification of new genetic predictors in the Russian population, particularly associations of the rs1132896 polymorphism of the matrix metalloproteinase type 2 gene (*MMP-2*) with the development of acute cerebrovascular accident (ACVA).

**OBJECTIVE:** To investigate the relationship of rs1132896 gene *MMP-2* polymorphisms with ACVA development.

**MATERIALS AND METHODS:** The prospective, case–control study enrolled 318 patients with stroke (main group) and 323 controls (control group). The age of the patients in the main group ranged from 32 to 69 [57.0; 51.0–62.0] years. In the control group, the age of the patients ranged from 37 to 68 [55.0; 51.0–62.0] years, which was comparable to that of the main group. Sexual dimorphism was as follows: 191 men (age [56.5; 51.0–62.0]) and 127 women (age [57.0; 51.0–62.0]). The sex composition in the control group corresponded to that in the main group: 214 men (age [55.0; 51.0–62.0]) and 109 women (age [55.0; 51.0–62.0]). The main group underwent clinical examination, computed tomography of the brain, electrocardiography, echocardiography, duplex ultrasound scanning of the extracranial brachiocephalic arteries, 24-h monitoring of blood pressure and heart rate, and analysis of the blood coagulation system. Molecular genetic research was conducted at a branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of RAS (Novosibirsk). All patients provided written informed consent to participate voluntarily in the study. The duration of the study was 3 years, starting in 2019. The primary study endpoint was a diagnosis of stroke, verification of concomitant cardiovascular pathology, and risk factors for stroke development. Statistical processing of the results was performed using SPSS Statistics v. 22 (IBM Corp., USA) and MedCalc 22.006 (Microsoft, USA). When comparing extended variables, the Mann–Whitney *U*-test was used. Discrete values were compared using Pearson's  $\chi^2$  test.

**RESULTS:** When analyzing statistical significance, a predominance of the homozygous CC genotype was recorded in the group of male patients with stroke:  $n=24$  (12.6%) vs  $n=20$  (9.3%;  $p=0.0324$ ). In addition, in the group of women, a statistically significant predominance of the heterozygous CG genotype was noted in women with stroke:  $n=67$  (52.8%) vs  $n=42$  (38.5%;  $p=0.0420$ ).

**CONCLUSION:** The homozygous CC genotype in men and the heterozygous CG genotype in women may be genetic predictors of the development of ACVA. The study of genetic factors in the development of ACVA is necessary to create a personalized approach to patient management at the outpatient and inpatient stages of medical care.

**Keywords:** acute cerebrovascular accident; polymorphism; matrix metalloproteinase type 2 gene (*MPP-2*).

## To cite this article:

Nikulin DA, Chernova AA, Nikulina SYu, Prokopenko SV, Cherkashina II. Associations of the rs1132896 polymorphism of the matrix metalloproteinase type 2 gene with the development of acute cerebrovascular accident: A prospective case–control study. *Cardiosomatics*. 2023;14(4):215–222.

DOI: <https://doi.org/10.17816/CS569019>

## ОБОСНОВАНИЕ

Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) — это гетерогенное заболевание сосудистого генеза, характеризующееся высокой смертностью и инвалидностью лиц, переживших это состояние. И если средовые факторы ОНМК изучены неплохо, то спектр факторов генетических постепенно расширяется и подвергается осмыслению.

Однонуклеотидный вариант rs1132896 локализуется на хромосоме 16, положение 55485623. Мутации в этом варианте гена матриксной металлопротеиназы 2-го типа (MMP-2) влияют на активность матриксных металлопротеиназ (ММП), в частности, внеклеточных цинк- и кальций-зависимых ферментов эндопептидаз, которые ремоделируют белки внеклеточного матрикса сосудистых стенок, что опосредованно может приводить к развитию ишемического инсульта.

В литературе появляется всё больше сведений о том, что ММП (в частности, ММП-2) являются предикторами ишемического инсульта. Так, F. Niu и соавт. [1] изучали взаимосвязь между ММП-2 и риском развития инсульта в популяции Южного Китая. Ими были оценены однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) ММП-2 у пациентов с инсультом в ассоциативном исследовании с использованием схемы случай–контроль. 6 SNP ММП-2 были отобраны и генотипированы при помощи систем генетического анализа Agena MassARRAY, SNPStats, Haploview. 2 SNP в гене *MMP-2* оказались статистически значимо связаны с риском развития инсульта. В частности, аллель С rs1132896 значительно снижал риск развития инсульта (отношение шансов, ОШ=0,56, 95% доверительный интервал, 95% ДИ, 0,39–0,81;  $p=0,002$ ). Представленные результаты убедительно указывают на то, что генетические варианты ММП-2 являются важным медиатором риска наступления инсульта.

Некоторые литературные источники свидетельствуют о том, что ММП играют фундаментальную роль и в восстановлении после инсульта [2]. ММП — это семейство из более чем 20 протеиназ, широко распространённых в тканях человека. Они способны разрушать почти все белки внеклеточного матрикса и необходимы для миграции клеток, процессов заживления, образования рубцов и других изменений тканей [3, 4].

Помимо функций в процессах заживления и наращивания матрикса, множество данных свидетельствует о том, что содержание ММП-2 в сыворотке крови повышается при инсульте [5–7]. Таким образом, становится ясно, что генетические факторы способствуют развитию ишемического инсульта.

В экспериментальных моделях черепно-мозговой травмы некоторые ММП не регулируются после ишемии [8, 9], кровоизлияния [10] и травмы [11]. Накапливаются доказательства того, что ММП играют важную роль и при острой черепно-мозговой травме [12]. Плейотропность эффектов ММП была доказана путём выявления полиморфизмов ММП при различных заболеваниях. Установлены ассоциации ММП и с заболеваемостью раком [13] и ишемической болезнью сердца [14]. В русскоязычной литературе

сведений об ассоциации полиморфизма гена *MMP-2* с ОНМК не найдено, в связи чем было решено экстраполировать результаты зарубежных исследований в этой области на российскую популяцию.

**Цель исследования** — изучить ассоциации полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* с развитием ОНМК.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Дизайн исследования

Проведено проспективное исследование случай–контроль.

### Критерии соответствия

*Критерии включения:*

- лица женского и мужского пола с ОНМК;
- возраст старше 18 лет;
- место проживания — г. Красноярск или Красноярский край;
- способность больного выполнять необходимые процедуры;
- согласие пациента на участие в исследовании.

*Критерии невключения:*

- неуточнённый диагноз у пациента;
- возраст младше 18 лет;
- проживание обследуемого вне Красноярского края.

*Критерии исключения:*

- неспособность обследуемого проходить необходимые процедуры;
- пациенты, не желающие выполнять протокол исследования или процедуры.

*Критерии включения в контрольную группу:*

- пациенты, сопоставимые по полу и возрасту с основной группой исследования;
- пациенты без сердечно-сосудистых заболеваний и факторов риска, за исключением артериальной гипертензии.

### Условия проведения

Набор лиц в основную группу происходил в 2 стационарах: КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им. И.С. Берзона» (КГБУЗ КМКБ № 20) и Федеральном Сибирском научно-клиническом центре ФМБА России (Красноярск). Поскольку исследование проводили на базе 2 крупных государственных больниц, все приборы для исследования и проведения КТ, электрокардиографии (ЭКГ), эхокардиоскопии (ЭхоКС), дуплексного сканирования экстракраниальных брахиоцефальных артерий, а также суточные мониторы артериального давления и сердечного ритма, приборы для измерения лабораторных показателей проходили соответствующую поверку (согласно графику периодической поверки сертифицированная организация проверяет соответствие работы оборудования

определённым утвержденным стандартам). Исходных знаний и средств было достаточно для достижения выше-названной цели исследования. Методология исследования перед исследованием была отработана и принята Этическим комитетом КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого.

### Продолжительность исследования

Набор лиц основной группы осуществляли в течение 3 лет, с сентября 2019 по сентябрь 2021 года.

### Целевые показатели исследования

- Первичная конечная точка исследования — регистрация ОНМК у пациента.
- Вторичные конечные точки исследования — сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой системы, которые диагностируются у пациента.

### Методы измерения целевых показателей

Методы регистрации ОНМК и сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой системы — проведение КТ головного мозга, ЭКГ, ЭхоКС, ультразвукового дуплексного сканирования экстракраниальных брахиоцефальных артерий, суточного мониторирования артериального давления и сердечного ритма, анализ свёртывающей системы крови. Комплекс проводящихся исследований был направлен на диагностику ОНМК у пациентов, верификацию сопутствующей сердечно-сосудистой патологии и факторов риска развития ОНМК. У всех наблюдаемых лиц основной группы был диагностирован ишемический инсульт. У 19 человек (13 мужчин и 6 женщин) зарегистрировали повторный эпизод ОНМК. В основной группе пациентов не было выявлено ишемической болезни сердца. Наиболее частым сердечно-сосудистым заболеваниями, предшествующим ОНМК, оказались артериальная гипертензия (249 человек, из них 153 мужчины и 96 женщин). Нарушения сердечного ритма в виде пароксизмальных наджелудочковых тахикардий (в это число входит и фибрилляция предсердий) зарегистрированы у 31 человека (20 мужчин и 11 женщин).

Перечень факторов риска в группе ОНМК следующий:

- дислипидемия (159 пациентов, из них 95 мужчин и 64 женщины);
- атеросклероз брахиоцефальных артерий (160 пациентов, из них 94 мужчины и 66 женщин);
- нарушения системы гемостаза в сторону гиперкоагуляции (90 пациентов, из них 53 мужчины и 37 женщин);
- у 28 пациентов (19 мужчин и 9 женщин) имелись родственники с ОНМК.

Контрольная группа нашего исследования — это популяционная выборка населения г. Новосибирска. Их обследование осуществляли по стандарту международного проекта HAPIEE, выполненного в 2013–2017 гг. С пациентами контрольной группы был реализован ряд процедур:

- проводили опрос (социально-экономические условия жизни, хронические заболевания, состояние психического и физического здоровья);

- определяли конституциональные особенности (рост, масса тела, объём талии и бёдер);
- предлагали им опросник о курении, объёме употребляемого алкоголя (частота и типичная доза);
- измеряли цифры артериального давления, оценивали липидный спектр крови;
- проводили анкетирование на диагностику стенокардии напряжения (Rose), ЭКГ покоя в 12 отведениях;
- выполняли обследование на респираторные и когнитивные функции.

Артериальная гипертензия в группе сравнения была верифицирована у 177 человек (из них 98 мужчин и 79 женщин). Иных сердечно-сосудистых заболеваний и также факторов риска их развития на момент обследования в группе сравнения зафиксировано не было.

Молекулярно-генетический анализ венозной крови пациентов с ОНМК и здоровых лиц проводили в НИИ терапии и профилактической медицины — филиале «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН» (Новосибирск). Геномную ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Однонуклеотидные последовательности rs662799 тестировали с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в соответствии с протоколом фирмы-производителя (зонды TaqMan, «Applied Biosystems», США) на приборе StepOnePlus («Applied Biosystems», США). Результаты молекулярно-генетического анализа представлены на 318 пациентах основной и 323 пациентах контрольной группы.

### Анализ в подгруппах

Наряду с анализом ассоциаций полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* в общей группе, мы отдельно проводили анализ ассоциаций в группе мужчин и в группе женщин.

### Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Этическим комитетом КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол № 324 от 05.09.2019). Все пациенты подписали письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

### Статистический анализ

#### Принципы расчёта размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

#### Статистические методы

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением набора прикладных программ Statistica for Windows v. 7.0 (StatSoft Inc., США), MedCalc 22.006 (Microsoft, США) и SPSS Statistics v. 22 (IBM, США). При выполнении статистического анализа использовали типовой порядок проведения статистических процедур, при этом способы статистической обработки были использованы в соответствии с характером учётных признаков и числа групп сравнения. Точный критерий Фишера применяли в том случае,

**Таблица 1.** Верификация частот генотипов и аллелей полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* среди больных с острым нарушением мозгового кровообращения и лиц контрольной группы

**Table 1.** Verification of the frequencies of genotypes and alleles of the rs1132896 polymorphism of the *MMP-2* gene among patients with acute cerebrovascular accident and in the control group

Полиморфный аллельный вариант	Ишемический инсульт (n=318)		Контроль (n=323)		p
	Абс.	%	Абс.	%	
GG	123	38,7	132	40,9	0,339
CG	155	48,7	153	47,4	0,150
CC	40	12,6	38	11,8	0,156
Итого	318	100,0	323	100,0	-
Аллели					
	Абс.	%	Абс.	%	
Аллель G	401	63,1	417	64,6	0,324
Аллель C	235	36,9	229	35,4	0,436
Итого	636	100,0	646	100,0	-
GG	123	38,7	132	40,9	0,508
CG + CC	195	61,3	191	59,1	0,564
Итого	318	100,0	323	100,0	-

Примечание (здесь и в табл. 2, 3). p — уровень значимости при сравнении распределения генотипов с показателями группы контроля.

Note (here and in Tables 2, 3). p — is the level of significance when comparing the distribution of genotypes with the indicators of the control group.

когда желаемые частоты имели значение  $<5$ . Относительный риск вероятности заболевания по конкретному аллелю или генотипу рассчитывали как отношение шансов (ОШ). Данные представлены в виде абсолютных значений, доли (%) от абсолютных значений, вычисления среднего квадратичного значения, стандартной девиации, *t*-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Участники исследования

С целью определения ассоциации полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* с формированием ОНМК нами было обследовано 318 больных с диагнозом ОНМК и 323 человека контрольной группы. Возраст пациентов основной группы составил от 32 до 69 лет [57,0; 51,0–62,0]. У пациентов контрольной группы возраст был сопоставим с таковым в основной: от 37 до 68 лет [55,0; 51,0–62,0]. Половой диморфизм был следующим: 191 мужчина (возраст [56,5; 51,0–62,0]) и 127 женщин (возраст [57,0; 51,0–62,0]). Половой состав лиц контрольной группы соответствовал таковому лиц основной: 214 мужчин (возраст [55,0; 51,0–62,0]) и 109 женщин (возраст [55,0; 51,0–62,0]).

**Таблица 2.** Установленные частоты генотипов и аллелей полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* среди больных мужчин с острым нарушением мозгового кровообращения и мужчин контрольной группы

**Table 2.** Established frequencies of genotypes and alleles of the rs1132896 polymorphism of the *MMP-2* gene among sick men with acute cerebrovascular accident and men in the control group

Полиморфный аллельный вариант	ОНМК, мужчины (n=191)		Контроль, мужчины (n=214)		p
	Абс.	%	Абс.	%	
GG	79	41,4	83	38,8	0,156
CG	88	46,1	111	51,9	0,710
CC	24	12,6	20	9,3	<b>0,0324</b>
Итого	191	100,0	214	100,0	-
Аллели					
	Абс.	%	Абс.	%	
Аллель G	246	64,4	277	64,7	0,806
Аллель C	136	35,6	151	35,3	0,801
Итого	382	100,0	428	100,0	-
GG	79	41,4	83	38,8	0,506
CG + CC	112	58,6	131	61,2	0,324
Итого	191	100,0	214	100,0	-

### Основные результаты исследования

Результаты анализа полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* среди больных с ОНМК представлены в табл. 1.

В основной группе больных с ОНМК преобладали лица с гетерозиготным генотипом CG:  $n=155$  (48,7%). Частота встречаемости распространённого генотипа GG составила 122 (38,7%), а редкого гомозиготного генотипа CC — 40 (12,6%). В контрольной группе также преобладали лица с гетерозиготным генотипом CG:  $n=153$  (47,4%). Число носителей гомозиготного генотипа GG составило 132 (40,9%), а гомозиготного генотипа CC по редкому аллелю — 38 (11,8%; см. табл. 1) человек. Статистической значимости зафиксировано не было ( $p=0,150$ ), но отмечена тенденция к увеличению частоты встречаемости гетерозиготного генотипа CG у больных с ишемическим инсультом.

Результаты исследования полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* среди больных ОНМК мужчин представлены в табл. 2.

В основной группе больных мужчин с ишемическим инсультом преобладали лица с гетерозиготным генотипом CG:  $n=88$  (46,1%). Частота встречаемости распространённого гомозиготного генотипа GG составила 79 (41,4%), а редкого гомозиготного генотипа CC — 24 (12,6%). В контрольной группе преобладали мужчины с гетерозиготным генотипом CG:  $n=111$  (51,9%). Число мужчин-носителей гомозиготного генотипа GG, составило 83 (38,8%), а гомозиготного генотипа CC по редкому аллелю — 20 (9,3%; см. табл. 2) человек. При анализе статистической значимости получено значимое преобладание гомозиготного генотипа CC в

**Таблица 3.** Определённые частоты генотипов и аллелей полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* среди больных женщин с острым нарушением мозгового кровообращения и женщин контрольной группы

**Table 3.** Certain frequencies of genotypes and alleles of the rs1132896 polymorphism of the *MMP-2* gene among sick women with acute cerebrovascular accident and women in the control group

Полиморфный аллельный вариант	ОНМК, женщины (n=127)		Контроль, женщины (n=109)		P
	Абс.	%	Абс.	%	
GG	44	34,6	49	45,0	0,802
CG	67	52,8	42	38,5	<b>0,042</b>
CC	16	12,6	18	16,5	0,513
Итого	127	100,0	109	100,0	-

  

Аллели					
	Абс.	%	Абс.	%	
Аллель G	155	61,0	140	64,2	0,203
Аллель C	99	39,0	78	35,8	0,324
Итого	254	100,0	218	100,0	-
GG	44	34,6	49	45,0	0,082
CG + CC	83	65,4	60	55,0	0,076
Итого	127	100,0	109	100,0	-

группе больных мужчин с ОНМК:  $n=24$  (12,6%) vs  $n=20$  (9,3%;  $p=0,0324$ ). Таким образом, этот генотип можно рассматривать как генетический предиктор развития ОНМК у мужчин.

Результаты анализа полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* среди больных ишемическим инсультом женщин представлены в табл. 3. В основной группе больных женщин с ишемическим инсультом преобладали лица с гетерозиготным генотипом CG:  $n=67$  (52,8%). Частота встречаемости распространённого гомозиготного генотипа GG составила 44 (34,6%), а редкого гомозиготного генотипа CC — 16 (12,6%). В контрольной группе число женщин с распространённым гомозиготным генотипом GG составило 49 (45,0%), с гетерозиготным генотипом CG — 42 (38,5%), а с гомозиготным генотипом CC по редкому аллелю — 18 (16,5%; см. табл. 3) человек. При проведении статистического анализа в группе женщин отмечено значимое преобладание гетерозиготного генотипа CG у женщин с ОНМК:  $n=67$  (52,8%) vs  $n=42$  (38,5%;  $p=0,042$ ). Таким образом, гетерозиготный генотип CG у женщин является генетическим предиктором развития ОНМК. Подобная тенденция отмечена и в общей группе обследуемых с ОНМК.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Резюме основного результата исследования

Исследование проведено с целью выявления ассоциаций полиморфизма rs1132896 гена *MMP-2* с развитием

ОНМК. Изучены молекулярно-генетические основы развития ОНМК в сибирской популяции, в частности, полиморфизм rs1132896 у пациентов с ОНМК. Исследован половой диморфизм заболевания, то есть выявлены генетические предикторы ОНМК в группе лиц мужского пола, гомозиготный генотип CC исследуемого гена можно рассматривать как генетический предиктор развития ОНМК в группе больных мужчин с ОНМК. В группе женщин с верифицированным ОНМК статистически значимо преобладал гетерозиготный генотип CG гена *MMP-2*, что также позволяет использовать его в диагностическом поиске в качестве генетического предиктора развития заболевания.

### Обсуждение основного результата исследования

В настоящее время исследователями уделяется значительное внимание роли ММП в развитии ишемического инсульта. Причины развития ОНМК многообразны. Наряду с большим числом средовых факторов, всё больше учёных обращают внимание на генетические факторы риска развития ОНМК. В последние годы в ряде зарубежных публикаций появились данные об участии ММП (и конкретно ММП-2) в развитии ОНМК.

В нашей работе в российской популяции пациентов при анализе статистической значимости получено значимое преобладание гомозиготного генотипа CC в группе больных мужчин с ОНМК (12,6% vs 9,3%). Кроме того, в группе женщин зафиксировано статистически значимое преобладание гетерозиготного генотипа CG у женщин с ОНМК (52,8% vs 38,5%). Поскольку мутации в этом варианте гена *MMP-2* влияют на активность ММП, в частности, внеклеточных цинк- и кальций-зависимых ферментов эндопептидаз, то происходит ремоделирование белков внеклеточного матрикса сосудистых стенок, что опосредованно может привести к развитию ишемического инсульта.

Прикладной характер работы очевиден. Так, расширение спектра генетических маркёров ОНМК может способствовать улучшению стратификации риска заболевания и целенаправленной и своевременной профилактики у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. Носители патологических генотипов представляют собой особую популяцию высокого генетического риска развития ОНМК, поэтому именно эти лица с факторами риска развития ОНМК прежде всего составляют приоритетную группу диспансерного наблюдения. В этой группе необходима организация эффективных целевых профилактических мероприятий, направленных на улучшение качества жизни пациентов и предотвращение у них исключительно высокой преждевременной смертности. Такой подход в большой степени актуален для амбулаторного звена здравоохранения и может быть успешно использован в поликлинической работе. Внедрение генетического рискометра мультифакториальной модели развития ОНМК при сердечно-сосудистых заболеваниях, которое проводится в крупной больнице г. Красноярск — КГБУЗ КМКБ № 20 — позволит предотвратить ряд сердечно-сосудистых катастроф.

## Ограничения исследования

Наше исследование выполнено по схеме случай–контроль. Генеральная совокупность в исследовании — это популяция жителей г. Красноярска и Красноярского края, где мы выявляли случаи ОНМК. На эту популяцию до начала исследования воздействовали различные факторы риска, но факт их воздействия на отдельные лица популяции установить невозможно, то есть этот аспект остаётся неизвестным.

Исследование случай–контроль начинают сразу с составления групп сравнения. В идеале обе группы сравнения должны отбираться из одной популяции. Группа контроля в нашем исследовании набиралась из популяционной выборки жителей г. Новосибирска, учитывая практически одинаковые характеристики 2 крупных промышленных городов Сибири, что также можно выделить в качестве ограничения исследования.

Кроме того, выборка в нашем исследовании слишком малочисленна для того, чтобы экстраполировать его результаты на всю российскую популяцию.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНО

**Вклад авторов.** Д.А. Никулин — набор и обработка материала для исследования; А.А. Чернова — работа с литературой; С.Ю. Никулина — анализ полученных результатов; С.В. Прокопенко — неврологический осмотр пациентов; И.И. Черкашина — работа с контрольной группой исследования.

**Источник финансирования.** Не указан.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Niu F., Wei B., Yan M., et al. Matrix metalloproteinase-2 gene polymorphisms are associated with ischemic stroke in a Hainan population // *Medicine (Baltimore)*. 2018. Vol. 97, N 39. P. e12302. doi: 10.1097/MD.00000000000012302
2. Lucivero V., Prontera M., Mezzapesa D.M., et al. Different roles of matrix metalloproteinases-2 and -9 after human ischaemic stroke // *Neurol Sci*. 2007. Vol. 28, N 4. P. 165–170. doi: 10.1007/s10072-007-0814-0
3. Galis Z.S., Sukhova G.K., Libby P. Microscopic localization of active proteases by in situ zymography: detection of matrix metalloproteinase activity in vascular tissue // *FASEB J*. 1995. Vol. 9, N 10. P. 974–980. doi: 10.1096/fasebj.9.10.7615167
4. Du J., Jin T., Cao Y., et al. Association between genetic polymorphisms of MMP8 and the risk of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in the population of northern China // *Medicine (Baltimore)*. 2016. Vol. 95, N 37. P. e4794. doi: 10.1097/MD.0000000000004794
5. Romanic A.M., White R.F., Arleth A.J., et al. Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size // *Stroke*. 1998. Vol. 29, N 5. P. 1020–1030. doi: 10.1161/01.str.29.5.1020
6. Clark A.W., Krekoski C.A., Bou S.S., et al. Increased gelatinase A (MMP-2) and gelatinase-B (MMP-9) activities in human brain after focal ischemia // *Neurosci Lett*. 1997. Vol. 238, N 1–2. P. 53–56. doi: 10.1016/s0304-3940(97)00859-8
7. Mun-Bryce S., Rosenberg G.A. Matrix metalloproteinases in cerebrovascular disease // *J Cereb Blood Flow Metab*. 1998. Vol. 18, N 11. P. 1163–1172. doi: 10.1097/00004647-199811000-00001
8. Fatar M., Stroick M., Griebel M., Hennerici M. Matrix metalloproteinases in cerebrovascular diseases // *Cerebrovasc Dis*. 2005. Vol. 20, N 3. P. 141–151. doi: 10.1159/000087197
9. Rosenberg G.A., Navratil M. Metalloproteinase inhibition blocks edema in intracerebral hemorrhage in the rat // *Neurology*. 1997. Vol. 48, N 4. P. 921–926. doi: 10.1212/wnl.48.4.921
10. Vecil G.G., Larsen P.H., Corley S.M., et al. Interleukin-1 is a key regulator of matrix metalloproteinase-9 expression in human neurons in culture and following mouse brain trauma in vivo // *J Neurosci Res*. 2000. Vol. 61, N 2. P. 212–224. doi: 10.1002/1097-4547(20000715)61:2<212::AID-JNR12>3.0.CO;2-9
11. Cunningham L.A., Wetzel M., Rosenberg G.A. Multiple roles for MMPs and TIMPs in cerebral ischemia // *Glia*. 2005. Vol. 50, N 4. P. 329–339. doi: 10.1002/glia.20169

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гомозиготный генотип СС у мужчин и гетерозиготный генотип СG у женщин являются генетическими предикторами развития ОНМК. Таким образом, поскольку каждая популяция имеет свои генетические особенности, очень важна экстраполяция результатов уже полученных исследований на новые популяции для расширения наших знаний, практического опыта и правильной тактики ведения пациентов. Снижение смертности от сердечно-сосудистых заболеваний достигается различными направлениями работы. Первичная профилактика — одно из направлений работы врача, прежде всего — врача первичного звена здравоохранения. При этом очень важным в индивидуализации профилактических мероприятий является использование молекулярно-генетических методов. Результаты нашего исследования могут быть использованы в общетерапевтической практике центров здоровья, а также в консультативных и профилактических кабинетах амбулаторно-поликлинического звена для выделения в семьях лиц высокого риска развития ОНМК.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Author's contribution.** D.A. Nikulin — collection and processing of material; A.A. Chernova — work with literature; S.Yu. Nikulina — analysis of the results obtained; S.V. Prokopenko — neurological examination of patients; I.I. Cherkashina — work with the control group of the study.

**Funding source.** Not specified.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

12. Liu L., Sun J., Li G., et al. Association between MMP-12-82A/G polymorphism and cancer risk: a meta-analysis // *Int J Clin Exp Med*. 2015. Vol. 8, N 8. P. 11896–11904.
13. Jia P., Wu N., Zhang X., Jia D. Association of matrix metalloproteinase-1-519A/G polymorphism with acute coronary

- syndrome: a meta-analysis // *Int J Clin Exp Med*. 2015. Vol. 8, N 4. P. 5675–5682.
14. Zhang Y., Wang M., Zhang S. Association of MMP-9 gene polymorphisms with glaucoma: a meta-analysis // *Ophthalmic Res*. 2016. Vol. 55, N 4. P. 172–179. doi: 10.1159/000443627

## REFERENCES

1. Niu F, Wei B, Yan M, et al. Matrix metalloproteinase-2 gene polymorphisms are associated with ischemic stroke in a Hainan population. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(39):e12302. doi: 10.1097/MD.00000000000012302
2. Lucivero V, Prontera M, Mezzapesa DM, et al. Different roles of matrix metalloproteinases-2 and -9 after human ischaemic stroke. *Neurol Sci*. 2007;28(4):165–170. doi: 10.1007/s10072-007-0814-0
3. Galis ZS, Sukhova GK, Libby P. Microscopic localization of active proteases by in situ zymography: detection of matrix metalloproteinase activity in vascular tissue. *FASEB J*. 1995;9(10):974–980. doi: 10.1096/fasebj.9.10.7615167
4. Du J, Jin T, Cao Y, et al. Association between genetic polymorphisms of MMP8 and the risk of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in the population of northern China. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(37):e4794. doi: 10.1097/MD.00000000000004794
5. Romanic AM, White RF, Arleth AJ, et al. Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size. *Stroke*. 1998;29(5):1020–1030. doi: 10.1161/01.str.29.5.1020
6. Clark AW, Krekoski CA, Bou SS, et al. Increased gelatinase A (MMP-2) and gelatinase-B (MMP-9) activities in human brain after focal ischemia. *Neurosci Lett*. 1997;238(1–2):53–56. doi: 10.1016/s0304-3940(97)00859-8
7. Mun-Bryce S, Rosenberg GA. Matrix metalloproteinases in cerebrovascular disease. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1998;18(11):1163–1172. doi: 10.1097/00004647-199811000-00001
8. Fatar M, Stroick M, Griebel M, Hennerici M. Matrix metalloproteinases in cerebrovascular diseases. *Cerebrovasc Dis*. 2005;20(3):141–151. doi: 10.1159/000087197
9. Rosenberg GA, Navratil M. Metalloproteinase inhibition blocks edema in intracerebral hemorrhage in the rat. *Neurology*. 1997;48(4):921–926. doi: 10.1212/wnl.48.4.921
10. Vecil GG, Larsen PH, Corley SM, et al. Interleukin-1 is a key regulator of matrix metalloproteinase-9 expression in human neurons in culture and following mouse brain trauma *in vivo*. *J Neurosci Res*. 2000;61(2):212–224. doi: 10.1002/1097-4547(20000715)61:2<212::AID-JNR12>3.0.CO;2-9
11. Cunningham LA, Wetzel M, Rosenberg GA. Multiple roles for MMPs and TIMPs in cerebral ischemia. *Glia*. 2005;50(4):329–339. doi: 10.1002/glia.20169
12. Liu L, Sun J, Li G, et al. Association between MMP-12-82A/G polymorphism and cancer risk: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(8):11896–11904.
13. Jia P, Wu N, Zhang X, Jia D. Association of matrix metalloproteinase-1-519A/G polymorphism with acute coronary syndrome: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(4):5675–5682.
14. Zhang Y, Wang M, Zhang S. Association of MMP-9 gene polymorphisms with glaucoma: a meta-analysis. *Ophthalmic Res*. 2016;55(4):172–179. doi: 10.1159/000443627

## ОБ АВТОРАХ

**Никulin Дмитрий Александрович**, канд. мед. наук, ассистент;  
ORCID: 0000-0003-2977-1792;  
eLibrary SPIN: 7122-4397;  
e-mail: nikulin86@list.ru

**Чернова Анна Александровна**, д-р мед. наук, профессор;  
ORCID: 0000-0003-2977-1792;  
eLibrary SPIN: 6094-7406;  
e-mail: anechkachernova@yandex.ru

\* **Никulina Светлана Юрьевна**, д-р мед. наук, профессор;  
адрес: Россия, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1;  
ORCID: 0000-0002-6968-7627;  
eLibrary SPIN: 1789-3359;  
e-mail: nicoulina@mail.ru

**Прокопенко Семён Владимирович**, д-р мед. наук, профессор;  
ORCID: 0000-0002-4778-2586;  
eLibrary SPIN: 1279-7072;  
e-mail: s.v.proc.58@mail.ru

**Черкашина Ирина Ивановна**, д-р мед. наук, профессор;  
ORCID: 0000-0003-3825-3946;  
eLibrary SPIN: 9715-1475;  
e-mail: cherkashina@list.ru

## AUTHORS INFO

**Dmitrii A. Nikulin**, MD, Cand. Sci. (Med.), assistant;  
ORCID: 0000-0003-2977-1792;  
eLibrary SPIN: 7122-4397;  
e-mail: nikulin86@list.ru

**Anna A. Chernova**, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;  
ORCID: 0000-0003-2977-1792;  
eLibrary SPIN: 6094-7406;  
e-mail: anechkachernova@yandex.ru

\* **Svetlana Yu. Nikulina**, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;  
address: 1 Partizana Zheleznyaka Str., 660022, Krasnoyarsk, Russia;  
ORCID: 0000-0002-6968-7627;  
eLibrary SPIN: 1789-3359;  
e-mail: nicoulina@mail.ru

**Semen V. Prokopenko**, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;  
ORCID: 0000-0002-4778-2586;  
eLibrary SPIN: 1279-7072;  
e-mail: s.v.proc.58@mail.ru

**Irina I. Cherkashina**, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;  
ORCID: 0000-0003-3825-3946;  
eLibrary SPIN: 9715-1475;  
e-mail: cherkashina@list.ru

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author